

抑癌基因 p53 在肝癌组织中的异常表达及临床意义

郭晓东^{1,2} 熊璐² 曹晨² 陈红鸽² 世文彪³ 刘树红² 赵雨来² 赵景民^{2△}

(1 军医进修学院 北京 100853 2 解放军第 302 医院 北京 100039 3 云南省罗平县板桥中心卫生院 云南 罗平 655800)

摘要 目的 探讨抑癌基因 p53 在肝癌组织中表达及临床意义,为肝癌的治疗提供新的思路。方法 回顾性分析了 2006 年 1 月~2009 年 8 月收治的 40 例肝癌患者的临床资料,采用免疫组织化学法测定肝癌组织、癌旁组织和正常组织中抑癌基因 p53 的表达,并分析不同肿瘤分化程度患者 p53 的表达。结果 p53 阳性表达率在肝癌组、癌旁组分别为 47.5%和 2.5%,在正常组未检测到 p53 阳性表达,三组之间比较有显著性差异($\chi^2=6.515$, $P=0.024$)。高分化癌 P53 蛋白阳性表达率低,中低分化癌 P53 蛋白阳性表达率高,组比较均有显著性差异($P<0.05$),中、低分化组之间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 在肝癌组织中存在 p53 基因的高表达,其阳性表达与肿瘤分化程度有关。

关键词 肝癌 抑癌基因 p53 免疫组化

中图分类号 R735.7 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)01-66-03

Abnormal Expression of Tumor Suppressor Gene P53 in Hepatocellular Carcinoma and its Clinical Significance

GUO Xiao-dong^{1,2}, XIONG Lu², CAO Chen², CHEN Hong-ge², SHI Wen-biao³, LIU Shu-hong², ZHAO Yu-lai², ZHAO Jing-min^{2△}

(1 Chinese PLA Postgraduate Medical School, Beijing, China, 100853; 2 302 Hospital of PLA, Beijing, China, 100039;

3 Luoping County Banqiao Center Hospital, Yunnan, China, 655800)

ABSTRACT Objective: To investigate the abnormal expression of tumor suppressor gene p53 in hepatocellular carcinoma and its clinical significance. **Methods:** The clinical data of patients with primary liver cancer was retrospectively analyzed from January 2006 to August 2009. The p53 expression in hepatocellular carcinoma, cancer tissue and normal tissue was detected by immunohistochemistry method, and the p53 expression were analyzed in different degree of tumor differentiation. **Results:** The p53 expression rate in liver cancer group and the adjacent group were 47.5% and 2.5%, respectively. There was no p53 expression in the normal group. The difference among the three groups were significant ($\chi^2=6.515$, $P=0.024$). The positive expression rate of p53 in well-differentiated carcinoma was low, but the positive expression of p53 in moderately and poorly differentiated carcinoma was high; the difference was significant ($P<0.05$). The difference was not significant between moderately and poorly differentiated carcinoma ($P>0.05$). **Conclusions:** The tumor suppressor gene p53 has high expression in the liver cancer, and its expression is related to degree of tumor differentiation.

Key words: Liver cancer; Tumor suppressor gene; p53; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)01-66-03

肝癌是临床消化系统恶性肿瘤中较为常见,对人类的生命健康造成严重威胁。在肿瘤的发生和发展过程中,细胞凋亡起到了非常重要的作用,诱导凋亡已成为肿瘤治疗的主要方法之一。近来研究表明^[1-2],肝癌的发生发展与组织内部细胞增殖和凋亡之间的平衡失调相关,特别是细胞凋亡过程的异常,不仅与肿瘤的形成相关,而且与肿瘤的恶性转化及转移等生物学行为也有较密切的关系^[3]。p53 为重要肿瘤抑制基因,同时又是促凋亡基因, p53 的功能与肿瘤发生关系密切^[4-5]。因此,本研究应用免疫组织化学方法检测 p53 在肝癌组织中的表达,旨在为进一步阐明肝癌的发生和发展机制,寻找治疗肝癌的新的药物作用靶点提供思路。

1 资料与方法

作者简介 郭晓东(1981-),主治医师,研究方向 肝病诊断与治疗;

联系方式 :13911161582

△通讯作者 赵景民

(收稿日期 2011-10-06 接受日期 2011-10-31)

1.1 一般资料

回顾性分析了 2006 年 1 月~2009 年 8 月我院收治的 40 例原发性肝癌患者的临床资料,入选患者均经病理诊断(肝穿刺活组织检查或切除术后组织病理学检查确诊)符合肝癌临床诊断标准者,且临床资料完整,并成功随访。入选患者术前均未做过任何放疗或化疗,均行手术切除治疗,并经病理确诊为 HCC。入选的 40 例肝癌患者中,男 31 例,女 9 例,年龄 24~71 岁,平均(46.58±11.5)岁;高分化癌 5 例,中分化癌 15 例,低分化癌 20 例。另选肝血管瘤患者手术患者 20 例为对照组,男 12 例,女 8 例,年龄 21~64 岁,平均(48.51±15.3)岁,所切取的肝脏组织经镜下诊断正常,无残余血管瘤组织,无明显炎症,无明显细胞增生等病变。

1.2 检测方法

肝癌患者行手术切除时在癌及癌旁 2cm 以外处取材,肝血管瘤患者取正常肝脏组织,标本予以中性福尔马林固定及石蜡包埋后,进行常规 4μm 切片,运用免疫组化法检测,经微波抗原修复,余步骤严格遵照 S-P 试剂盒说明书操作。DAB

显色,苏木精复染,常规脱水、透明、封片。用已知阳性的肝癌标本做阳性对照,用 PBS 代替一抗做空白对照。p53 阳性定位于细胞核,以核内有明显的棕色颗粒作为核阳性的判定标准,阳性观察与结果判断参照文献方法^[6]。免疫组化试剂:一抗工作浓度为 1:100,DAB 及鼠单抗 p53 工作液购自迈新生物技术公司。

1.4 统计学方法

所有计量资料采用均数± 标准差表示($\bar{x} \pm s$),数据分析采

用 SPSS13.0 统计分析软件,计数资料比较采用 χ^2 检验,计量资料比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组、癌旁组、正常组中 p53 的表达

p53 阳性表达率在在肝癌组、癌旁组分别为 47.5%和 2.5%,在正常组未检测到 p53 阳性表达,三组之间比较有显著性差异($\chi^2=6.515, P=0.024$)。结果见表 1。

表 1 肝癌组、癌旁组、正常组中 p53 的表达

Table 1 The expression of p53 in HCC group, the adjacent group and the normal group

组别 Groups	n	阴性(例) Negative(n)	阳性(例) Positive (n)	阳性(%) Positive (%)
肝癌组 HCC group	40	21	19	47.5
癌旁组 adjacent group	40	39	1	2.5
正常组 normal group	20	20	0	0.0

2.2 p53 蛋白表达与肝癌病理分化程度的关系

高分化癌 P53 蛋白阳性表达率低,中低分化癌 P53 蛋白阳性表达率高,高分化组与中低分化组比较均有显著性差异

($P < 0.05$),中、低分化组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果见表 1。

表 2 p53 蛋白表达与病理分化程度的关系

Table 2 The relationship between p53 protein expression and pathological differentiation

分化程度 Differentiation	n	阴性(例) Negative(n)	阳性(例) Positive (n)	阳性(%) Positive (%)
高级 High grade	5	4	1	20.0
中级 Middle grade	15	7	8	53.3*
低级 Low grade	20	11	9	45.0*

注:与高分化组比较 * $P < 0.05$

Note: Compared with high grade group, * $P < 0.05$

3 讨论

肝癌是我国最常见的癌症之一,我国的肝癌发病率和死亡率占全球每年新发病率和死亡人数的 55%^[7],而肝细胞性肝癌占肝癌 80% 以上^[8]。迄今为止已发现 100 多种癌基因,但是抑癌基因却很少,而抑癌基因的突变、缺失及失活在癌的发生发展中起着关键性的作用。p53 为人染色体 17p13,是目前新发现的抑癌基因,也是重要的促凋亡基因。野生型 p53 不仅作为抑癌基因发挥作用,还参与基因转录、DNA 损伤与修复、细胞周期调控、细胞凋亡、细胞增殖及细胞分化等多个过程^[9-12]。另外野生型 p53 基因可提高肿瘤细胞对放、化疗的敏感性,诱导肿瘤细胞局部产生 TNF 和 IL-6 等炎性细胞因子,抑制肿瘤新生血管形成。越来越多的证据表明 p53 基因的突变与失活和肝癌的发生发展有着密切联系^[13],其抗肿瘤机制有:参与细胞周期调节、对细胞凋亡的调控等^[14]。

本次研究采用免疫组化方法对肝癌组织、癌旁组织和正常肝组织中 p53 表达进行检测,结果 p53 阳性表达率在在肝癌组、癌旁组分别为 47.5%和 2.5%,在正常组未检测到 p53 阳性表达,三组之间比较有显著性差异。结果表明 p53 基因与肝癌的发生有相关性。喻宏等^[15]收集 62 例原发性肝癌组织及相应癌旁组织,检测 p53 的表达并进行观察,结果 p53 在癌组织中表达明显高于癌旁组织。本文结果与文献报道一致。本研究结果显示高分化癌 P53 蛋白阳性表达率低,中低分化癌 P53 蛋白阳性表达率高,高中分化组与中低分化组比较均有显著性差异($P < 0.05$)。表明肝癌组织中 p53 的表达与肝癌分化程度密切相关,肿瘤细胞恶性程度越高, p53 的表达越高。

总之,在肝癌组织中存在 p53 基因的高表达,其阳性表达与肿瘤分化程度有关。因此,我们认为 p53 基因是一种较为理想的分子靶向肝癌治疗基因之一,可以通过人工转导修补突变的 p53 基因,恢复其抑癌功能。

参考文献(References)

- [1] Parkin M, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics 2002 [J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55 (2): 74-78
- [2] Han XJ, Dong BW, Liang P, et al. Local cellular immune response induced by ultrasoundguided tumor bed superantigen injection after percutaneous microwave coagulation therapy for liver cancer [J]. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi, 2009,31(8):602-606
- [3] Li YX, Lin ZB, Tan HR. Wild type p53 increased chemosensitivity of drug-resistant human hepatocellular carcinoma Bel7402/5-FU cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2008, 25(1): 76-82
- [4] 吴鹏飞. 抑癌基因 p53 与原发性肝癌的研究进展[J]. 河南医学研究, 2010,19(3):374-375
Wu Peng-fei. Tumor suppressor gene p53 and primary hepatic carcinoma research progress[J]. Henan Medical Research, 2010,19(3): 374-375
- [5] Efeyan A, Serrano M. p53 guardian of the genome and policeman of the oncogenes [J]. Cell Cycle, 2007, 6(9): 1006-1010
- [6] Akere A, Otegbayo JA. Evaluation of the pattern and prognostic implications of anti-p53 in hepatocellular carcinoma [J]. Singapore Med J, 2007, 48(1): 41-44
- [7] Green DR, Kroemer G. Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53 [J]. Nature, 2009, 458 (7242): 1127-1130
- [8] Li-Ping Song, Yue-Ping Li, Ning Wang, et al. NT4(Si)-p53(N15)antennapedia induces cell death in a human hepatocellular carcinoma cell line [J]. World Journal of Gastroenterology, 2009, 15 (46):5813-5820
- [9] 张艳玲, 梁后杰, 肖文华, 等. 细胞凋亡、PCNA、p53 和 Fas 与肝细胞癌临床病理特征关系的研究 [J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(24): 2191-2192
- Zhang Yan-ling, Liang Hou-jie, Xiao Wen-hua, et al. Relationship of apoptosis, proliferation, p53, and Fas with clinicopathological characteristics in human hepatocellular carcinoma [J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2004, 26(24): 2191-2192
- [10] Shangary S, Wang S. Targeting the MDM2-p53 interaction for cancer therapy [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(17): 5318-5324
- [11] Shangary S, Qin D, McEachern D, et al. Temporal activation of p53 by a specific MDM2 inhibitor is selectively toxic to tumors and leads to complete tumor growth inhibition [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105 (10): 3933-3938
- [12] Shangary S, Wang S. Targeting the MDM2-p53 interaction for cancer therapy [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14 (17): 5318-5324
- [13] Scoumanne A, Chen X. Protein methylation: a new mechanism of p53 tumor suppressor regulation [J]. Histol Histopathol, 2008, 23 (9): 1143-1149
- [14] Lu C, El-Deiry WS. Targeting p53 for enhanced radio- and chemosensitivity [J]. Apoptosis, 2009, 14 (4): 597-606
- [15] 喻宏, 钟仁华, 黄振. 林 P53、AR、ER 在原发性肝癌、癌旁组织中的表达及意义 [J]. 国际医药卫生导报, 2006, 12(24): 12-14.
Yu Hong, Zhong Renhua, Huang Zhenling. The Association Study and its Clinical Significance of the Expression of P53, AR and ER in the Primary Hepatocellular Carcinoma (liver cancer) and Surrounding Tissue [J]. International Medicine & Health Guidance News, 2006, 12 (24): 12-14
-
- (上接第 51 页)
- [12] Carrotta R, Di Carlo M, Manno M, et al. Toxicity of recombinant beta-amyloid prefibrillar oligomers on the morphogenesis of the sea urchin *Paracentrotus lividus* [J]. FASEB J, 2006, 20: 1916-1924
- [13] Kaye R, Head E, Thompson J L, et al. Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis [J]. Science, 2003, 300: 486-489
- [14] Harper JD, Wong SS, Lieber CM, et al. Assembly of A β amyloid protofibrils: An in vitro model for a possible early event in Alzheimer's disease [J]. Biochemistry, 1999, 38: 8972-8980
- [15] Selkoe HJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics [J]. Science, 2002, 297: 353-356
- [16] Rudi D'Hooge, Peter P De Deyn. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory [J]. Brain Research Reviews, 2001, 36(1): 60-90